

# ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ КИШЕЧНЫХ ФОСФАТАЗ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КОКЦИДИОЗАХ ЦЫПЛЯТ (*E. TENELLA*, *E. MITIS*)

М. А. Мусаев и А. М. Суркова

Институт зоологии Академии наук Азербайджанской ССР

На основании проведенных экспериментов установлено, что при заражении цыплят *E. tenella* и *E. mitis* активность щелочной и кислой фосфатаз тонкого кишечника изменяется, причем это изменение при заражении *E. tenella* меньше, чем при заражении *E. mitis*.

В связи с широким распространением и большой биологической ролью фосфомоноэстераз (щелочной и кислой) в животном организме изучению их посвящено значительное число работ, освещающих уровень ферментов в органах и тканях в норме и патологии.

Известно, что при различных инфекционных и инвазионных заболеваниях животных и птиц уровень щелочной и кислой фосфатаз изменяется не в одинаковой степени и не всегда в одном направлении. Однако изменение активности этих ферментов при кокцидиозах, как одном из наиболее опасных заболеваний молодняка животных и птиц, пока еще изучено недостаточно. Кроме работ Рэя и Гила (Ray and Gill, 1954; Gill and Ray, 1954) и Бейер (1963), изучавших активность фосфатаз участка кишечника, пораженного кокцидиями у цыплят при заражении *Eimeria tenella*, у кроликов, инвазированных *E. intestinalis* и *E. magna*, мы не встречали других литературных источников по этому вопросу.

Учитывая недостаточность литературных сведений и важную роль этих ферментов в процессе пищеварения, мы поставили задачу выяснить изменение активности щелочной и кислой фосфомоноэстераз слизистой оболочки тонкого отдела кишечника цыплят разного возраста на разных стадиях инвазии при заражении двумя видами кокцидий — *E. tenella* и *E. mitis*.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты в шести сериях проведены на цыплятах породы белый плимутрок, стерильных по кокцидиозу. Всего в опытах использовано 420 молодых птиц 20-, 40- и 60-дневного возраста. Заражение осуществлялось введением в зоб пяти тысяч зрелых ооцист (чистой культуры). Декапитацию производили натошак на 3-й, 5-й, 7-й, 10-й, 20-й день после заражения по 10 голов.

Контрольных цыплят в том же количестве забивали на 3-й (контроль I) и 20-й (контроль II) день. Результаты, полученные на 3-й, 5-й, 7-й, 10-й день, сравнивались с контролем I, данные 20-го дня — с контролем II. Активность фосфатаз определяли по С. Балаховскому и И. Балаховскому (1953).

Исходным материалом служили соскобы слизистой оболочки переднего отдела тощей кишки, взятые и обработанные сразу после забоя. Определение проводили при оптимуме рН для щелочной фосфатазы 9.0—9.2,

кислой — 5.0—5.2. За активность принимали количество неорганического фосфора, отщепившегося от  $\beta$ -глицерфосфата натрия при реакции его с гомогенатом слизистой оболочки, при инкубации в течение 1 часа при температуре 37°. Результаты выражали в мг Р/г слизистой оболочки. Экспериментальные данные обработаны статистически.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментов, проведенных для выяснения активности фосфатаз при заражении кокцидиями *E. tenella* и *E. mitis*, представлены в табл. 1 и 2.

Т а б л и ц а 1

Изменение активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки тощей кишки при заражении цыплят *E. tenella*  
(в мг Р/г ткани)

Возраст (в днях)	Статистические показатели	Контроль I	Дни после заражения					Контроль II
			3-й	5-й	7-й	10-й	20-й	
20	$M \pm t$ $P$	$6.74 \pm 0.21$ —	$6.06 \pm 0.25$ $< 0.1$	$5.32 \pm 0.21$ $< 0.001$	$5.63 \pm 0.26$ $< 0.01$	$5.41 \pm 0.27$ $< 0.01$	$4.94 \pm 0.28$ $> 0.5$	$4.96 \pm 0.26$ —
40	$M \pm t$ $P$	$4.96 \pm 0.26$ —	$4.24 \pm 0.29$ $< 0.1$	$3.58 \pm 0.24$ $< 0.01$	$3.90 \pm 0.25$ $< 0.02$	$4.01 \pm 0.23$ $< 0.02$	$4.64 \pm 0.25$ $> 0.5$	$4.60 \pm 0.27$ —
60	$M \pm t$ $P$	$4.60 \pm 0.27$ —	$4.19 \pm 0.28$ $< 0.5$	$3.69 \pm 0.28$ $< 0.05$	$3.47 \pm 0.23$ $< 0.01$	$3.74 \pm 0.28$ $< 0.05$	$4.30 \pm 0.23$ $> 0.5$	$4.26 \pm 0.25$ —

Т а б л и ц а 2

Изменение активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки тощей кишки при заражении цыплят *E. mitis*  
(в мг Р/г ткани)

Возраст (в днях)	Статистические показатели	Контроль I	Дни после заражения					Контроль II
			3-й	5-й	7-й	10-й	20-й	
20	$M \pm t$ $P$	$7.46 \pm 0.21$ —	$5.34 \pm 0.26$ $< 0.001$	$5.54 \pm 0.27$ $< 0.001$	$6.40 \pm 0.22$ $< 0.01$	$6.52 \pm 0.28$ $< 0.02$	$6.04 \pm 0.23$ $> 0.5$	$5.95 \pm 0.23$ —
40	$M \pm t$ $P$	$5.95 \pm 0.23$ —	$4.09 \pm 0.28$ $< 0.001$	$4.84 \pm 0.27$ $< 0.001$	$5.14 \pm 0.27$ $< 0.05$	$6.15 \pm 0.24$ $> 0.5$	$5.63 \pm 0.25$ $> 0.5$	$5.62 \pm 0.24$ —
60	$M \pm t$ $P$	$5.62 \pm 0.24$ —	$3.96 \pm 0.26$ $< 0.001$	$4.55 \pm 0.28$ $< 0.01$	$4.68 \pm 0.23$ $< 0.02$	$6.02 \pm 0.22$ $< 0.5$	$5.41 \pm 0.26$ $> 0.5$	$5.36 \pm 0.22$ —

Как видно из данных табл. 1, при заражении цыплят *E. tenella* активность щелочной фосфатазы в слизистой оболочке тощей кишки начинает уменьшаться с 3-го дня после заражения у всех возрастных групп цыплят. Однако уменьшение на 3-й день инвазии у цыплят всех возрастных групп статистически недостоверно. Наибольшее снижение активности фосфатаз отмечается на 5-й день, при этом у 20-дневных цыплят уменьшается по сравнению с контролем на 1.42 ( $p < 0.01$ ), у 40-дневных — 1.38 ( $p < 0.01$ ), 60-дневных — 0.91 ( $p < 0.05$ ) мг Р/г ткани. Примерно на таком уровне активность фермента удерживается до 10-го дня. К концу опыта (к 20-му дню) выработка щелочной фосфатазы нормализуется.

Данные табл. 2 свидетельствуют о наиболее сильном уменьшении уровня щелочной фосфоэстеразы при заражении цыплят *E. mitis* на 3-й и 5-й день инвазии с наибольшим уменьшением на 3-й день. У 20-дневных цыплят в это время активность понижается на 2.12 ( $p < 0.001$ ), 40-дневных — 1.86 ( $p < 0.001$ ), 60-дневных — 1.66 ( $p < 0.01$ ) мг Р/г ткани по сравнению с нормой. Период пониженной активности щелочной фосфатазы у 20-дневных цыплят более длителен и заканчивается только на 20-й день. У цыплят же 40- и 60-дневных на 10-е сутки активность фермента соответствует норме и по абсолютным цифрам несколько превышает ее, хотя статистически это не подтверждается. На 20-й день от начала опыта актив-

ность щелочной фосфатазы у цыплят всех возрастов находится в пределах нормы.

Результаты изучения кислой фосфатазы при заражении *E. tenella* приведены в табл. 3, при заражении *E. mitis* — в табл. 4. Как видно из данных табл. 3, активность кислой фосфатазы слизистой оболочки тощей кишки при заражении цыплят *E. tenella* постепенно уменьшается. При этом отмечается общая тенденция к некоторому повышению активности на 10-й день после заражения. Однако статистическая обработка показала, что отклонения от нормы недостоверны. К 20-му дню уровень фермента у цыплят в опытной группе почти такой же, как и в контрольной.

Т а б л и ц а 3  
Изменение активности кислой фосфатазы слизистой оболочки тощей кишки при заражении цыплят *E. tenella*  
(в мг Р/г ткани)

Возраст (в днях)	Статистические показатели	Контроль I	Дни после заражения					Контроль II
			3-й	5-й	7-й	10-й	20-й	
20	$M \pm m$ $P$	$1.198 \pm 0.045$ —	$1.218 \pm 0.034$ > 0.5	$1.173 \pm 0.040$ > 0.5	$1.096 \pm 0.040$ < 0.2	$1.112 \pm 0.040$ < 0.5	$1.053 \pm 0.032$ > 0.5	$1.040 \pm 0.037$ —
40	$M \pm m$ $P$	$1.040 \pm 0.037$ —	$0.999 \pm 0.032$ < 0.5	$1.002 \pm 0.035$ < 0.5	$0.941 \pm 0.039$ < 0.1	$0.957 \pm 0.040$ < 0.2	$0.842 \pm 0.032$ < 0.5	$0.876 \pm 0.036$ —
60	$M \pm m$ $P$	$0.876 \pm 0.036$ —	$0.851 \pm 0.031$ > 0.5	$0.923 \pm 0.042$ < 0.5	$0.792 \pm 0.033$ < 0.2	$0.826 \pm 0.033$ < 0.5	$0.772 \pm 0.031$ > 0.5	$0.790 \pm 0.034$ —

Т а б л и ц а 4  
Изменение активности кислой фосфатазы слизистой оболочки тощей кишки при заражении цыплят *E. mitis*  
(в мг Р/г ткани)

Возраст (в днях)	Статистические показатели	Контроль I	Дни после заражения					Контроль II
			3-й	5-й	7-й	10-й	20-й	
20	$M \pm m$ $P$	$1.277 \pm 0.039$ —	$1.283 \pm 0.032$ > 0.5	$1.128 \pm 0.036$ < 0.02	$1.205 \pm 0.034$ < 0.2	$1.279 \pm 0.039$ > 0.5	$1.218 \pm 0.030$ < 0.5	$1.182 \pm 0.040$ —
40	$M \pm m$ $P$	$1.182 \pm 0.040$ —	$1.196 \pm 0.039$ > 0.5	$1.040 \pm 0.037$ < 0.05	$1.083 \pm 0.035$ < 0.1	$1.180 \pm 0.033$ > 0.5	$1.033 \pm 0.031$ > 0.5	$1.008 \pm 0.037$ —
60	$M \pm m$ $P$	$1.008 \pm 0.037$ —	$0.909 \pm 0.031$ < 0.1	$0.898 \pm 0.032$ < 0.05	$0.943 \pm 0.030$ < 0.2	$1.027 \pm 0.032$ > 0.5	$0.950 \pm 0.032$ > 0.5	$0.937 \pm 0.030$ —

Из данных табл. 4 видно, что при заражении цыплят *E. mitis* уровень кислой фосфатазы заметно понижается на 5-й день. У 20-дневных цыплят понижение активности составляет 0.149 ( $p < 0.02$ ), 40-дневных — 0.142 ( $p < 0.05$ ), 60-дневных — 0.110 ( $p < 0.05$ ) мг Р/г ткани. На 7-й день разница между опытом и контролем уже недостоверна, а на 20-й активность возрастает и даже немного превышает контроль.

Анализ полученных данных показывает, что при заражении цыплят *E. tenella* период понижения активности щелочной фосфатазы начинается со времени образования шизонтов и мерозоитов второй генерации и продолжается до 10-го дня патентного периода.

В работах Рэя и Гила (1954) и Бейер (1963) отмечалось, что кокцидии вызывают местную инактивацию щелочной фосфатазы зараженного участка кишечника хозяина. Однако на основании полученных нами данных можно сказать, что при заражении цыплят *E. tenella* происходит не только местная инактивация щелочной фосфатазы, но и понижение ее секреции в тонком отделе кишечника. Можно предположить, что понижение активности фермента в органе, расположенном на значительном расстоянии от места локализации эндогенных стадий развития паразита, связано с ингибирующим действием продуктов метаболизма паразита, а также с действием на организм сопутствующей микрофлоры.

Период понижения активности щелочной фосфатазы при заражении *E. mitis* охватывает весь препатентный и часть патентного периода. Максимум понижения приходится на период развития шизонтов и гамонтов. Надо полагать, что нарушение целостности эпителия ворсинок тощей кишки при внутриклеточном развитии паразита (*E. mitis*) ведет к нарушению отделения кишечной щелочной фосфомоноэстеразы. Восстановление ее активности связано, вероятно, с регенерацией нарушенного эпителиального слоя клеток.

Степень понижения активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки тощей кишки при заражении *E. tenella* оказалась меньше, чем при *E. mitis*. Отмечается также определенная зависимость снижения уровня фермента при заражении обоими видами кокцидий от возраста хозяина. С увеличением возраста степень понижения активности становится менее значительной.

Как показали наши исследования, наибольшая глубина понижения активности щелочной фосфомоноэстеразы у всех подопытных возрастных групп цыплят приходится на препатентный—начало патентного периода, т. е. в наиболее острую фазу заболевания. Опыты показали, что при заражении цыплят *E. tenella* активность кислой фосфомоноэстеразы в слизистой оболочке тощей кишки практически не изменяется. Наблюдаемое постепенное снижение имеет возрастной характер.

Активность кислой фосфатазы при заражении цыплят *E. mitis* понижается во время созревания гамонтов и формирования ооцист, что связано, по-видимому, с разрушением ядер эпителиальных клеток хозяина в процессе роста паразитов. Следовательно, на содержание кислой фосфатазы слизистой оболочки тонкого кишечника цыплят заражение кокцидиями *E. tenella* не оказывает заметного влияния, заражение же *E. mitis* вызывает кратковременное понижение ее активности.

Одновременно с изменениями уровня кишечных фосфатаз, вызванными явлениями патологического порядка, прослежена возрастная динамика их активности у клинически здоровых цыплят (по контрольным группам). В результате отмечено закономерное понижение активности щелочной и кислой фосфатаз слизистой оболочки тощей кишки с возрастом цыплят, что соответствует имеющимся литературным данным. При этом наиболее существенные изменения активности щелочной фосфатазы наблюдали между 20-м и 40-м днями, а кислой — между 40-м и 60-м днями. Таким образом, наивысший уровень содержания щелочной фосфатазы в кишечнике приходится на период наиболее интенсивного роста цыплят.

## ВЫВОДЫ

1. При заражении цыплят *E. tenella* и *E. mitis* происходит снижение активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки тощей кишки.

2. При кокцидиозах, вызываемых *E. tenella* и *E. mitis*, отмечена зависимость снижения активности щелочной фосфатазы от возраста хозяина. С увеличением возраста степень понижения активности щелочной фосфатазы уменьшается.

3. Глубина изменений активности щелочной фосфатазы при заражении *E. tenella* меньше, чем при заражении *E. mitis*.

4. Наибольшее понижение уровня щелочной фосфатазы отмечено в острый период заболевания — в конце препатентного и в начале патентного периодов.

5. Активность кислой фосфатазы при заражении *E. tenella* практически не изменяется, тогда как при заражении *E. mitis* понижается в период образования гамонтов и формирования ооцист.

6. Можно полагать, что понижение активности щелочной и кислой фосфатаз тонкого кишечника при кокцидиозах цыплят приводит к нарушению процесса всасывания аминокислот, задержке роста и развития.

### Л и т е р а т у р а

- Б а л а х о в с к и й С. Д. и Б а л а х о в с к и й И. С. 1963. Методы химического анализа крови. Медгиз, М., : 286.
- Б е й е р Т. В. 1963. Цитохимическое исследование кишечных кокцидий кролика при разных условиях их существования в хозяине. Автореф. канд. дисс., Л.
- G i l l B. S. and R a y H. N. 1954. Phosphatase and their significance in *Eimeria tenella* Railliet et Lucet, 1891. Indian J. Veterin. Sci. Animal Husbandry, 24 : 239—244.
- R a y H. N. and G i l l B. S. 1954. Preliminary observations on alkaline phosphatase in experimental *Eimeria tenella* infection on chicks. Ann. Trop. Med. and Parasitol., 48 (1) : 8—10.
- 

### CHANGES IN THE ACTIVITY OF INTESTINAL PHOSPHATASES DURING EXPERIMENTAL COCCIDIOSIS OF CHICKENS (*EIMERIA TENELLA* AND *E. MITIS*)

M. A. Musaev and A. M. Surkova

### S U M M A R Y

20-, 40-, and 60-days old chickens, sterile with regard to coccidiosis, were infected with pure cultures of *Eimeria tenella* and *E. mitis* by introduction of 5 thousand oocysts into the crop. After the slaughter, 3-d, 5-th, 7-th, 10-th, 20-th days from the infection, changes in the activity of alkaline and acid phosphatases of the small intestine were studied. The experiment consisted of six series conducted on 420 chickens.

It was established that the activity of phosphatases of the small intestine changes in the process of the development of invasion. The degree of changes depends on species of *Coccidia*, age of the host and period of infection.

---